Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.

Über die

Konstanz der Sporenkeimung bei den Bacillen und ihre Verwendung als Merkmal zur Artunterscheidung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

hohen philosophischen Fakultät

der

Universität Würzburg

von

Dr. Georg Caspari,

Zahnarzt aus Rummelsburg in Pommern.

München.

Druck von R. Oldenbourg.

1902.

Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.

Über die
Konstanz der Sporenkeimung bei den Bacillen und ihre Verwendung als Merkmal zur Artunterscheidung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

hohen philosophischen Fakultät

der

Universität Würzburg

von

Dr. Georg Caspari,

Zahnarzt aus Rummelsburg in Pommern.

München.

Druck von R. Oldenbourg.

1902.

Sonder-Abdruck

aus dem

Archiv für Hygiene, Band XXXXII, Heft 1.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549805_0202

(Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

Die Zahl der in den letzten 25 Jahren neugefundenen Bakterienarten ist so bedeutend angewachsen, dafs ihre systematische Einteilung die gröfsten Schwierigkeiten bereitet, nicht zum wenigsten wegen der grofsen Variabilität der morphologischen und biologischen Charaktere.

Lehmann und Neumann[1]) haben in ihrer Bearbeitung der Bakteriologie wohl zuerst systematisch darauf hingewiesen, und sind für ihre Anschauung mit umfangreicherem Material hervorgetreten. Farbstoffbildung, Verflüssigung der Gelatine und andere chemische Leistungen werden dort als ebenso variabel bezeichnet wie die Pathogenität, ja auch die morphologischen Qualitäten, auf die eine Systematik sich in erster Linie stützen mufs: Gröfse, Form und Anordnung der Zellen, Begeifselung und Sporenbildung erscheinen als schwankend in ziemlich erheblichem Umfange. Sind auch die Beobachtungen, welche die Autoren für jede einzelne dieser Angaben anführen, nicht immer

1) Lehmann und Neumann, Bakteriologie und bakteriologische Diagnostik. München, Verlag von J. F. Lehmann, 1. Aufl., 1896.

zahlreich, so genügen sie in ihrer Gesamtheit, um den gewünschten Eindruck hervorzubringen, dafs die Schwierigkeit der Systematik der Bakterien in erster Linie in deren Variabilität liege.

Von den bakteriologischen Merkmalen, die zur Aufstellung einer Systematik der Bakterien geeignet erscheinen, ist die Art der Sporenkeimung und deren Konstanz bisher ziemlich wenig geprüft worden. Wohl haben Cohn[1]) und insbesondere Prazmowski[2]) darüber wichtige Angaben gemacht, doch hat erst in neuester Zeit Burchard, unter Leitung von Prof. Migula in Karlsruhe, der Sporenkeimung besondere Aufmerksamkeit geschenkt mit dem Resultate, dafs der Vorgang der Sporenkeimung bei jeder Art eine sehr konstante Eigenschaft sei, während sich die verschiedenen Arten durch sehr verschiedene Sporenkeimung unterscheiden. Einzelne andere Autoren haben kleinere Arbeiten publiziert, die nicht mit Burchard übereinstimmen, und auf die ich später zu sprechen komme.

Professor Dr. K. B. Lehmann, der mit Dr. Hirai an einigen Arten die Konstanz der Sporenkeimung studierte, kam zu Resultaten, die die Angaben Burchards als höchst auffallend erscheinen liefsen, so dafs derselbe wünschte, die Frage möge durch möglichst sorgfältige und kritische Untersuchung von neuem bearbeitet werden. Ich unterzog mich dieser Aufgabe um so lieber, als gerade die Gruppe der sporentragenden Bacillen eine Menge theoretisch und praktisch wichtiger Arten einschliefst.

Die Sporen sind als die Dauerzustände der Bakterien erkannt worden, welche von letzteren gebildet werden, sobald der Nährboden für die Existenz derselben ungeeignet geworden ist. Hierfür spricht auch besonders die wohl von keiner Seite

---

1) Cohn, Untersuchungen über Bakterien. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, I. Heft 2, 1872. — Untersuchungen über Bakterien. IV. Beiträge zur Biologie der Bacillen, Beiträge zur Biologie der Pflanzen, II, 1876, Heft 2.

2) Prazmowski, Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Leipzig, 1880. — Zur Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Botanische Zeitung, 1877.

bestrittene Erfahrung, dafs eine Auskeimung von Sporen auf demselben Nährboden nicht vor sich geht. Für das Auskeimen von Sporen sind als Bedingung erkannt worden: 1. unverbrauchter und für die bestimmte Bakterienart geeigneter Nährboden, 2. Feuchtigkeit und Wärme, 3. für viele Arten Sauerstoff. Die Keimung der Sporen leitet sich bei allen bisher beobachteten Arten in der gleichen Weise ein: die reife, vorher stark lichtbrechende und deutlich konturierte Spore beginnt, unter zur Auskeimung geeignete Bedingungen gebracht, im günstigsten Falle nach ca. ein bis zwei Stunden anzuschwellen, mit dieser Anschwellung ihren starken Lichtglanz zu verlieren, ihre Kontur runder und unbestimmter zu gestalten und allmählich an einer gewissen Stelle das Keimstäbchen hervortreten zu lassen. Je nach der Art nun, wie dieses Stäbchen die Membran verläfst, lassen sich drei verschiedene Modi, welche jedoch nicht ohne Übergänge sind, unterscheiden.

1. Keimung des Stäbchens unter Verquellen der Membran: Die Spore streckt sich in die Länge, die Kontur wird undeutlicher, der Lichtglanz erlischt, und diese Veränderungen gehen so lange langsam vorwärts, bis die Spore in Gestalt und Aussehen vollkommen einem Stäbchen gleicht, welches sich nach einiger Zeit teilt.

In keinem Stadium kann man auch nur die geringste Abhebung einer Sporenmembran beobachten. Man mufs dann annehmen, dafs sich entweder die Sporenmembran einfach zur Membran des jungen Stäbchens entwickelt oder, was wahrscheinlicher ist, »sie verschleimt und entzieht sich so der direkten Beobachtung« (Migula).[1]) Als Typus kann die von Klein bei seinem Bacillus leptosporus beschriebene Keimung gelten. Auch Burchard[2]) beobachtete während der Keimung seines Bacillus leptodermis nie eine abgestreifte Sporenmembran. Er erklärt das »durch die infolge ihrer (der Sporenmembran) sehr zarten

1) Migula, System der Bakterien. Jena, 1897.

2) Burchard, Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien. Arbeiten aus dem hygien. Institut Karlsruhe.

Struktur bewirkte, fast momentane Verquellung nach der Abstofsung; oder aber die alte Sporenhaut streckt sich direkt zur neuen Bakterienmembran, was allerdings weniger wahrscheinlich ist.«

2. Polare Keimung: Die Sporenmembran zeigt eine deutliche Abhebung während der Keimung und zwar so, dafs das Stäbchen durch einen polaren Rifs in der Sporenhaut ausschlüpft. Hierher gehören der Milzbrandbacillus und seine nächsten Verwandten.

3. Äquatoriale Keimung: Das Stäbchen schlüpft durch einen äquatorialen Rifs der Sporenhaut hervor. Bacillus subtilis und seine Verwandten.

Als Unterarten dieser Typen sind zunächst:

a) die schräge Auskeimung zu erwähnen, bei der das Stäbchen weder rein polar, noch rein äquatorial aus der Membran hervorbricht,

b) die hufeisenförmige Auskeimung, bei der zwar ein äquatorialer Einrifs der Membran erfolgt, das keimende Stäbchen sich jedoch in der Längsrichtung der Spore bildet, somit im Moment der Keimung sich mit dem gewölbten Rücken hufeisenförmig aus der Membran hervordrängt, indes die Stäbchenenden von der Membran umschlossen bleiben.

Diese Haupttypen der Sporenkeimung sind durch Übergänge miteinander verbunden, doch hat nach Migula und Burchard jede Art ihre besondere Form der Sporenkeimung, die sie von allen anderen Arten unterscheidet.

Inwieweit diese Konstanz besteht und inwieweit somit die Sporenkeimung zur Artunterscheidung der Bakterien zu verwerten, soll durch die folgenden Untersuchungen festgestellt werden.

Diese Untersuchungen wurden im hygienischen Institut der Universität Würzburg unter Leitung von Herrn Prof. Lehmann gemacht.

I. Teil. Untersuchungen.

Als ich diese Arbeit begann, bestanden zunächst die Hauptschwierigkeiten in der Beherrschung der Temperaturverhältnisse. Zur Erwärmung des Mikroskops benutzte ich den bekannten Zeifsschen Wärmekasten. Ich habe bei unserem Apparat durch eine gröfsere Reihe Untersuchungen konstatiert, dafs zwischen der am Regulator eingezeichneten Scala und der im Apparat durch ein Thermometer angezeigten Wärme, je nach dem Gasdruck, eine Differenz von 3—4° vorhanden ist. Weiterhin war zu beachten, dafs zur Erhaltung konstanter Temperaturen eine genügende Vor- und Durchwärmung des Mikroskops unbedingt notwendig ist. Es hat sich gezeigt, dafs hierfür eine Zeit von mindestens 60 Minuten, besser 90 Minuten, erforderlich ist. Unter Berücksichtigung dieser Beobachtungen ist es mir gelungen, meine Untersuchungen bei konstanten Temperaturen vorzunehmen. Ich habe als beste Keimungstemperatur für die von mir beobachteten Arten 32—34° erkannt, und soweit im folgenden nicht anders hervorgehoben, meine Beobachtungen bei dieser Temperatur vorgenommen. Ich will schon an dieser Stelle bemerken, dafs gerade bei den Keimungsbeobachtungen, um gleiche Resultate zu erhalten, konstante Temperaturen zu den Hauptvorbedingungen gehören, dafs schwankende Temperaturen nicht unwesentlich, besonders auf die Zeitverhältnisse einzuwirken vermögen.

Als Nährböden wurden in erster Linie Agar, dann Gelatine und Bouillon in der gewöhnlichen Zusammensetzung benutzt. Der gewöhnliche Agar hat vor der Gelatine und der Bouillon den Vorzug, dafs man die Sporen auf dem Deckglase wegen der Festigkeit des Agar nicht so fest anzukleben braucht, was für den Keimungsverlauf nicht ohne Einflufs zu sein scheint; dafs weiterhin die sogenannte Molekularbewegung, welche fast regelmäfsig bei den Beobachtungen in Bouillon von Anfang an die genaue Untersuchung stört, wesentlich vermindert wird. Ein weiterer Nachteil der Bouillon ist die gelbliche Färbung des Gesichtsfeldes, welche oft feinere Lichtbrechungsunterschiede zu

erkennen verhindert. Auch die Gelatine verlangt festeres Ankleben des Materials.

Im Verlaufe meiner Untersuchungen bin ich nun so verfahren, dafs ich zunächst die Reihe der von Burchard als neue Arten beschriebenen Bakterien nachuntersuchte. Ich bezog dieselben von Kral aus Prag. Weiterhin untersuchte ich dann noch eine Reihe selbstgezüchteter Bakterien. Da es für diese Arbeit nicht von Interesse schien, dieselben näher zu bestimmen, habe ich dies unterlassen und mich begnügt, ihrer Herkunft eine indifferente Bezeichnung als Unterscheidungsmerkmal beizufügen.

Zur Methodik will ich erwähnen, dafs ich zunächst bestrebt war, reines Sporenmaterial zu erhalten. Stäbchendetritusmassen im Gesichtsfelde können auf die Beobachtung im höchsten Grade störend einwirken. Anfangs bin ich so verfahren, dafs ich nach Burchard das betreffende Material in sterilisiertem Wasser oder Bouillon aufschwemmte, ca. $^1/_2$ Stunde auf 70° C. erwärmte, um auf diese Weise die noch vorhandenen lebenden Stäbchen abzutöten und ihren Detritus zum Verquellen zu bringen. Ich kam mit dieser Methode nur in seltenen Fällen zum Ziel. Einmal genügte die Temperatur nicht immer, um alle Detritusmassen zum Verquellen zu bringen. Dann lag auch die Gefahr nahe, dafs durch das Erwärmen der Sporen in irgend welcher Richtung auf dieselben eingewirkt werde. Jedenfalls habe ich bemerkt, dafs das so behandelte Material niemals so regelmäfsig keimte wie auf andere Methode gewonnenes.

Somit griff ich zu dem mehr Zeit raubenden Mittel, welches auch von Burchard zuweilen angewandt worden ist: durch längeres Verweilen bei geeigneter Temperatur in demselben Nährboden die Stäbchen zum Sporenbilden zu zwingen und ihre Detritusmassen zum Schwinden zu bringen. Für die von mir gezüchteten Arten genügte in den meisten Fällen schon eine Temperatur von 37° und eine Zeitdauer von 2—3 Tagen, um vollkommen reines und für die Beobachtung geeignetes Sporenmaterial zu erhalten. In anderen Fällen war zuweilen eine Zeitdauer von mindestens 6—8 Wochen erforderlich, um einiger-

mafsen reines Material zu erhalten. Bei einigen Burchard-schen Arten, die schon längere Zeit auf künstlichen Nährböden weitergezüchtet waren, kam ich aber auch auf diesem Wege nicht in den Besitz reinen Sporenmaterials. Ich versuchte deshalb mit Hilfe von Färbungsverfahren die vegetativen Elemente abzutöten und zu kennzeichnen, aber auch dieses Hilfsmittel lieferte mir die gehofften Resultate nicht. Aus diesem Grunde mufste das nähere Studium dieser Burchardschen Arten unterbleiben.

Die Präparate wurden in der Weise angefertigt, dafs mit einer geglühten Platinöse eine geringe Menge des vorbereiteten Materials auf einem sterilen Deckglas verrieben, das Material an der Luft getrocknet und mit dem Nährboden versehen wurde. Untersuchungen mit Gelatine und besonders Bouillon machen (im Gegensatz zu denen mit Agar) ein vorsichtiges Erwärmen und Antrocknen über der Flamme erforderlich.[1])

Das so mit dem Nährboden versehene Präparat wird alsdann mit Paraffin oder Vaselin auf einem hohlgeschliffenen Objektträger befestigt.

Versuche.

In der nachfolgenden Beschreibung meiner Versuche will ich nun so vorgehen, dafs ich, soweit es sich um Burchard'sche Arten handelt, meinen Untersuchungen zum Vergleich die Keimungsbeobachtungen Burchards in kurzem Auszuge vorausschicke. Ich will an dieser Stelle erwähnen, dafs ich aus meinen sehr zahlreichen Beobachtungen (ca. 25—30 von jeder Bakterienart) je einen als besonders gelungen zu bezeichnenden Versuch voranstelle und die anderen Versuche mit derselben Bakterienart, soweit sie nichts Neues bieten, nur kurz erwähne. Es sei auch nicht übergangen, dafs eine nicht unbeträchtliche Anzahl von Versuchen aus bisher zum Teil unaufgeklärten Gründen trotz sorgfältiger und gleichmäfsiger Anfertigung der Präparate scheiterte. Bei einem gewissen Prozentsatz dieser als mifsglückt

1) Bei dem Antrocknen der Präparate über der Flamme mufs man sehr vorsichtig verfahren, da meine so behandelten Präparate, wenn sie überhaupt keimten, grofse Variationen in der Auskeimungszeit zeigten.

zu bezeichnenden Versuche war teils das Präparat zu undeutlich, teils die zu untersuchenden Sporen zu klein, um überhaupt zu irgend welchen positiven Schlüssen Berechtigung zu geben, teils auch hatte ich besonders in der letzten Hälfte des Sommers mit ungünstigen und wechselnden Lichtverhältnissen zu kämpfen. Letztere Unannehmlichkeit wurde im Winter dadurch etwas gehoben, dafs ich die ganzen Untersuchungen bei Glühlicht vornahm, welches wenigstens den Vorzug der gleichmäfsigen Lichtstärke hatte.

Um möglichst objektive Urteile über das Gesehene zu fällen, habe ich aufser der Burchardschen Arbeit alles Litteraturstudium während meiner Beobachtungen vermieden. Es genügt deshalb wohl die Bemerkung, dafs ich nur das in meinen Zeichnungen wie auch in meinem Protokoll aufgenommen habe, was ich deutlich gesehen habe. Alles Undeutliche oder durch die Beobachtung nicht als sicher Erwiesene wird stets im nachfolgenden so bezeichnet werden. Nachdem dann meine Untersuchungen zu einem gewissen Abschlusse gelangt waren, begann ich meine Litteraturstudien, welche, wie ich nicht verhehlen will, einige genauere Nachuntersuchungen notwendig machten. Es wurden untersucht:

a) Burchardsche Arten (von Kral bezogen):

1. Bacterium perittomaticum.
2. Bacillus goniosporus.
3. Bacterium Petroselini.
4. Bacterium Filamentosum. E. Klein.
5. Bacterium angulans.
6. Bacillus loxosporus.

b) Durch die Freundlichkeit des Herrn Kollegen Zierler erhalten:

7. Bacillus gangraenosus pulpae.

c) Selbstgezüchtete Arten:

8. Bacillus aus der Luft gezüchtet von Herrn Professor Lehmann.
9. Heubacillus 1.
10. Heubacillus 2.

Ich will gleich an dieser Stelle hervorheben, dafs die von Kral bezogenen Burchardschen Bakterienarten im wesentlichen in ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften mit den von Burchard als charakteristisch angegebenen übereinstimmen, so dafs ich diesen Faktor nicht mehr bei jeder einzelnen untersuchten Art zu erwähnen brauche. Der von Herrn Kollegen Zierler zur Verfügung gestellte Bacillus gangraenosus pulpae ist mit dem von Arkövy aus der gangränen Zahnpulpa gezüchteten Bacillus sehr ähnlich. Der Bacillus aus der Luft wurde von Herrn Prof. Lehmann als zufälliger Befund einer anderen Kultur kultiviert, während Heubacillus 1 und 2 von mir aus Heuinfus nach bekannter Methode gezüchtet wurden. — Nach der Lehmann-Neumannschen Terminologie wären alle Burchardschen neuen Arten als »Bacillen« zu bezeichnen, ich habe eine Umtaufung unterlassen, weil ich mir nicht klar darüber war, inwieweit die von Burchard aufgestellten Arten als neu zu bezeichnen seien.

1. Bacterium perittomaticum Burchard.

Burchard beobachtete, dafs sich nach 45 Minuten die ersten Veränderungen an den neu eingelegten Sporen zeigten; nach 2 Stunden 40 Min. hatten alle ihren Glanz verloren und waren mit einer Ausnahme alle stark angeschwollen. Der Moment der Auskeimung ist sehr schwer zu beobachten, da die Sporen vor derselben stark anschwellen; »sie verlieren dabei ihr starkes Lichtbrechungsvermögen so vollständig, dafs die jungen hervortretenden Stäbchen sich fast gar nicht von dem in der Spore steckenden Teil unterscheiden lassen.« Nach 4 Stunden 45 Min. liefs sich die erste Keimung deutlich konstatieren, indem sich die Sporenmembran abzuheben begann. Keimungsmodus ist polar.

Eigene Untersuchungen.

Perittomaticum 25. X. Präparat stammt aus der Originalkultur, wurde über der Flamme nicht fixiert, sondern nur an der Luft getrocknet. Präparat mit einem Agartropfen von 60° C. versehen. Deckglas mit Vaselin auf dem hohlgeschliffenen Objektträger befestigt.

9 Uhr 45 Min. Präparat unter das erwärmte Mikroskop gebracht und sogleich gezeichnet. Reines Sporenmaterial, von denen 9 Sporen im Gesichtsfelde fixiert werden. Die Sporen sind stark konturiert, scharf lichtbrechend, in ihrer Form länglichrund.

10 Uhr 5 Min. Der Sporenkontur zeigt sich in seiner ganzen Circumferenz verwischt, wodurch die Sporen selbst etwas angeschwollen erscheinen. Minimale Abschwächung des hellen Lichtglanzes.

2 Uhr 30 Min. Sporen 1, 3, 6, 7 keimen mehr weniger regelmäfsig polar aus. Die Auskeimung ist im ganzen streng polar, d. h. in der Längsachse der Spore. Auch alle mit diesem Präparat zugleich und nach der gleichen Methode für den Brutofen zur Nebenuntersuchung angefertigten Präparate (5) zeigen mehr weniger deutlich polare Auskeimung. Bei Spore Nr. 6 ist das Durchbruchsloch des keimenden Stäbchens etwas verschoben, so dafs man diesen Modus nicht als streng polar zu bezeichnen braucht. Während des Zeichnens ist Nr. 7 schon geteilt. Ein Abheben der alten Sporenmembran ist nicht zu konstatieren. Der Moment, in dem das junge Stäbchen aus der stark verquollenen Keimspore hervorbricht, ist so kurz, dafs er kaum zu beobachten ist. Der ganze Akt macht den Eindruck, als ob das elastische Stäbchen, in der Membran eingeschlossen, gleichsam eingezwängt ist, und nach dem Durchbruch sich schnell bis zu einer gewissen Gröfse ausdehnt. Die Stäbchen sind unbeweglich.

8 Uhr 15 Min. abends. Sporen 2, 8, 9 ebenfalls polar ausgekeimt. Spore 4 unverändert.

Nächster Morgen. Spore 4 unverändert, keine Sporenbildung.

Mit Perittomaticum habe ich zur Kontrolle noch eine gröfsere Reihe weiterer Beobachtungen in Gelatine und Bouillon vorgenommen, welche im wesentlichen dasselbe zeigten:

1. Der Auskeimungsmodus war regelmäfsig polar, mit mehr weniger ausgesprochenen Schwenkung des auskeimenden Stäbchens. Die Sporenmembran war fast immer deutlich erkennbar, vielleicht in den flüssigeren Nährböden etwas mehr verquollen, und hing teils dem neu ausgeschlüpften Stäbchen noch an, teils gelang es demselben, die Membran frühzeitig abzustreifen. Die Stäbchen zeigten, falls nicht fixiert,

2. alle Eigenbewegung, welche an diejenige von subtilis erinnert. Die Auskeimungszeit, d. i. die Zeit bis zum Auskeimen der ersten Spore, schwankte zwischen 2 Stunden 45 Min. und 5 Stunden.

3. Einige Sporen keimten noch später, der gröfste Teil aber brauchte mindestens 12 Stunden. Auffallend war, dafs eine Reihe von gut ausgebildeten Sporen selbst nach 3 mal 24 Stunden noch keine Veränderung im Sinne einer Keimung zeigte; mithin die Annahme berechtigt scheint, dafs diese Sporen in demselben Nährboden überhaupt nicht auskeimen.

2. Bacillus goniosporus Burchard.

Burchard erwähnt, betr. der Auskeimung von Goniosporus nichts Besonderes. Die zu beobachtenden Sporen kamen um 8 Uhr 40 Min. unter das erwärmte Mikroskop, um 9 Uhr 30 Min. waren sie bereits blässer und begannen anzuschwellen, um 9 Uhr 45 Min. waren sie vollkommen trübe; erst um 11 Uhr 55 Min. ist die Anschwellung an allen Sporen sehr deutlich bemerkbar. Um 1 Uhr 50 Min. sind 4 von den 5 beobachteten Sporen polar ausgekeimt und die 5. Spore steht unmittelbar davor. Um 2 Uhr 5 Min. sind alle 5 Sporen ausgekeimt und 1 Spore hat bereits die alte Sporenhaut in Form eines schwach sichtbaren Käppchens etwas abzustreifen begonnen. Dieses soll wohl das Charakteristikum für diese Bakterienart sein; denn Burchard hebt extra hervor: die Sporenhaut sitzt den Stäbchen als helles, durchsichtiges Mützchen auf. Burchard scheint nur 3 Präparate und diese gleichzeitig angefertigt zu haben, und von diesen ist das näher Beschriebene anfangs bei 30° C., dann noch eine Stunde, vielleicht weil die Keimung nicht schnell genug vor sich ging, bei 33° C. gehalten worden. Trotzdem findet sich keine Anmerkung, ob überhaupt weitere Versuche mit Goniosporus gemacht wurden und wie ein Versuch bei konstanter Temperatur ausgefallen ist.

Meine eigenen Untersuchungen mit Goniosporus haben mir nun sehr widersprechende Resultate geliefert. Gerade mit Goniosporus habe ich sehr viel und auf allen Nährböden experimentiert, um die Keimung und die sich während derselben zeigenden Eigentümlichkeiten zu studieren.

a) Versuche mit Agar.

Goniosporus 6. XI. Präparat stammt aus der Originalkultur. Material an der Luft getrocknet, mit Agar beschickt, bei 32—34° C. beobachtet. Gleichzeitig mit diesem Präparat 5 Präparate für den Brutofen.

11 Uhr. Präparat unter das erwärmte Mikroskop gebracht. Reines Sporenmaterial. Sporen länglich oval, stark lichtbrechend, scharf konturiert, sehr deutlich.

11 Uhr 25 Min. Spore a vollkommene Trübung und starke Anschwellung auf der ganzen Circumferenz der Spore. Es scheint jedoch nur die Membran verquollen zu sein, da die Spore ihre frühere länglich ovale Form beibehalten hat.

12 Uhr 40 Min. Sporen c, d, f, g, i erscheinen ebenfalls verquollen. Spore a bedeutet in die Länge gestreckt und deutlich mit einem Ring versehen.

12 Uhr 55 Min. Spore a hat sich noch mehr gestreckt.

1 Uhr 5 Min. Sporen c und f sind auf der ganzen Circumferenz stärker angeschwollen und erscheinen so noch mehr vergrößert.

1 Uhr 7 Min. Spore a deutlich polar ausgekeimt. Das Stäbchen sieht mit einer etwas breiten Kappe aus dem Schlitz der Membran hervor. Es

scheint also der polaren Keimung eine deutliche Längsstreckung vorauszugehen. (Präparate des Brutofens zeigen vorwiegend polare Keimung; jedoch auch einige schräg polare Keimungen.)

3 Uhr. Alle Sporen aufser b und e mehr weniger deutlich polar ausgekeimt. Viele Stäbchen sind schon mehrfach geteilt. Einige sind beweglich. Am 7. XI. ist um

10 Uhr noch keine Sporenbildung zu beobachten. Die Eigenbewegung hat vollkommen aufgehört.

Am 8. XI. zeigen sich lang ausgewachsene Fäden mit undeutlicher Septierung ohne Trübung des protoplasmatischen Inhalts. Versuch abgebrochen.

b) Gelatine.

Am 9. XI. wurden Sporen von Goniosporus in Gelatine beobachtet, welche sich vor der Auskeimung allmählich vergröfserten, d. h. in die Länge streckten, und schliefslich ohne eine Membran erkennen zu lassen, in das ausgekeimte junge Stäbchen übergingen, so dafs der Moment der Keimung, d. h. ein Zerreifsen der Membran nicht zu beobachten war. Dieser Auskeimungsmodus setzte mich sehr in Erstaunen, zumal im Agar eine deutliche Membran beobachtet worden war und auch Burchard eine solche gesehen hatte. Es wurden daher eine gröfsere Reihe von Untersuchungen (ca. 25) mit Goniosporus in Gelatine vorgenommen, welche im wesentlichen zu gleichen Resultaten führten. Auch Beobachtungen im ganz frischen Agar zeigten an einigen Sporen die Sporenmembran vollkommen verquollen, so dafs Bilder beobachtet wurden, welche denen der Gelatine-Beobachtung vollkommen glichen.

Am 16. XI. wurde ein Versuch mit Gelatine im Verein mit Herrn Prof. Lehmann angestellt und lückenlos kontrolliert.

Die vorher stark lichtbrechend gewesene Spore dehnte sich allmählich unter Undeutlichwerden ihres Inhalts. Eine Membran fällt in diesem Stadium nicht auf; vielmehr ist die erfolgte Keimung erst dann zu konstatieren, wenn das Stäbchen sich zur Teilung anschickt. Ein allein liegendes junges Stäbchen ist von einer auskeimenden, genügend vorgeschrittenen Spore nicht zu unterscheiden. Auch nach erfolgter Teilung des Stäbchens ist man nicht imstande, eine Sporenmembran deutlich zu erkennen, auch ist das jüngere Stäbchen nicht schmäler als das ältere. Ein Moment, in dem das junge Stäbchen aus der es einschliefsen-

den Membran herausschlüpft, konnte trotz lückenloser Beobachtung nicht konstatiert werden. Selbst die nochmalige Untersuchung des Präparats nach etwaigen, den ausgeschlüpften Stäbchen anhaftenden Membranen hatte kein positives Resultat; zum mindesten war es unmöglich, einwandsfreies Material zu finden; wo hingegen sich viele Stäbchen fanden, an denen auch nicht die Spur einer Membran vorhanden war. Es ist an diesen Stäbchen unmöglich, zu entscheiden, mit welcher Seite sie ausgeschlüpft sind. Man muſs deshalb annehmen, daſs die Sporenmembran vollkommen verquillt.

c) Agar.

Um dieses eigentümliche Verhalten der Membran eingehend zu studieren, habe ich eine weitere Reihe von Untersuchungen in einem Agar vorgenommen, der einen verschieden hohen Flüssigkeitsgehalt hatte. Auch hier konnte ich an einigen Sporen-Auskeimungen ein vollständiges Verquellen der Sporenmembran beobachten. Aber Goniosporus zeigte noch eine weitere Eigentümlichkeit, nämlich ein äuſserst variables Auskeimen des jungen Stäbchens. Es kommt hier nur darauf an, eine gröſsere Menge von Einzelindividuen zu beobachten. Aus der Versuchsreihe, die sich hierauf bezieht, will ich nur zwei Beobachtungen mitteilen.

Goniosporus 3. XII.

Material stammt aus der Originalkultur. Präparat an der Luft getrocknet, mit frisch angefertigtem Agar beschickt, bei 32 bis 34° C. beobachtet.

1 Uhr 15 Min. Es werden 21 Sporen im Gesichtsfelde fixiert und gezeichnet.

2 Uhr 25 Min. Einige Sporen zeigen Veränderungen im Sinne einer Keimung.

3 Uhr 15 Min. Von den 21 Sporen zeigen 10 deutliche Auskeimung. Spore Nr. 8 Differenzierung im Sinne einer Keimung. Spore Nr. 5 zeigt an dem dem keimenden Stäbchen abgewandten Sporenmembranende eine kleine Vorwölbung, als ob dort ein neues Stäbchen hervorbräche.

4 Uhr. Die Vorwölbung an Spore Nr. 5 hat sich noch etwas vergröſsert und macht jetzt den Eindruck eines protoplasmatischen Fortsatzes. Im übrigen zeigten von den 10 ausgekeimten Sporen:

Streng polare Auskeimung Nr. 3, 4, 7, 9, 11, 13 . . . . = ca. 60 %
Schräg » » Nr. 1, 5, 10 . . . . . = » 30 %

unter Verschwinden der Membran, so daſs die Art der Auskeimung nicht zu konstatieren Nr. 12 = ca. 10 %.

Um 8 Uhr abends zeigte sich das Keimstäbchen aus Spore Nr. 8 geteilt, ohne während dieser Zeit eine Membran erkennen zu lassen. Weitere Auskeimungen waren im Präparat nicht zu konstatieren.

Goniosporus 4. XII. (Siehe Tafel, Fig. 1.)

Material aus der Originalkultur, an der Luft getrocknet, mit frischem Agar beschickt, bei 32—34° C. beobachtet. Es wurden, um einen gewissen Prozentsatz zu gewinnen, dieses Mal 56 Sporen beobachtet und gezeichnet.

Nach 2 Stunden 30 Min. keimten
deutlich aus . . . . . 18 Sporen = ca. 32,15 %.
Veränderungen im Sinne einer
Keimung zeigten . . . . . 19 Sporen = ca. 33,85 %.
Bei genügend langer Beobachtung
wären also ausgekeimt . . . 37 Sporen = ca. 66 %.
Überhaupt keine Veränderung zeigten also nach
2 Stunden 30 Min. . . . . ca. 34 %.

Von den 18 ausgekeimten Sporen war die Keimung:
Streng polar bei Nr. 1, 2, 26, 28, 29, 40, 45, 46. 48 = 9 = ca. 50 %.
Schräg » » Nr. 4, 6, 8, 12, 34 . . . . . = 5 = ca. 28 %.
Ohne ein Membran erkennen zu lassen Nr. 21, 23, 41, 43 = 4 = ca. 22 %.

Bei meiner Beobachtung war es mir auffallend, dafs gerade diejenigen Sporen, welche, ohne eine deutliche Membran zu erkennen zu geben, auskeimten, fast stets zuerst eine Veränderung im Sinne einer Keimung zeigten und auch im Präparat sich durch besondere Gröfse auszeichneten.

3. Bacterium Petroselini Burchard.

Burchard hat für die Keimung des Bacterium Petroselini ein Charakteristicum angegeben, nämlich, dafs die Sporenmembran, nachdem das keimende junge Stäbchen dieselbe nach Verlauf von ca. 1 Stunde 10 Min. ohne Besonderheiten polar durchbricht, deutlich 2 Schichtungen erkennen läfst. Er hat bei genauerer Durchsuchung gefunden, dafs in der That 2 Sporenhäute vorhanden waren. Die äufsere Haut ist, wie aus der Art der Lichtbrechung hervorgeht, die derbere, die innere die zartere. Meistens lagen die Häute sichelförmig bei einander, resp. untereinander.

Bei meinen Untersuchungen kam es mir darauf an, einmal nachzuschauen, ob es mir auch gelingen würde, 2 Sporenhäute bei der Keimmembran zu unterscheiden, dann aber besonders zu beobachten, wie sich diese beiden Membrane zu einander und zu den auskeimenden Stäbchen verhalten würden. Ich begnüge mich, aus der grofsen Reihe meiner Untersuchungen drei Beobachtungen mitzuteilen; da diese das, was ich teils allein, teils mit Herrn Prof. Lehmann gesehen habe, demonstrieren. Herr Prof.

Lehmann hat sich ganz besonders für diese Untersuchungen interessiert und war so liebenswürdig, mir für dieselben einen Zeifs'schen Apochromat zur Verfügung zu stellen.

Bakt. Petroselini 18. XI. (Siehe Tafel, Fig. 2.)

Material aus der Originalkultur, an der Luft fixiert, mit Agar versehen, bei 32—34° C. beobachtet.

4 Uhr. Das Präparat wird unter das erwärmte Mikroskop gebracht. Es zeigt reines Sporenmaterial, von dem 11 Sporen im Gesichtsfelde liegen und sogleich gezeichnet werden. Sporen stark lichtbrechend, länglich, oval-cylindrisch, scharf konturiert.

5 Uhr 30 Min. Nr. 1, 2, 3, 8, 10, 11 haben sich bedeutend vergröfsert. Diese Vergröfserung scheint nicht nur der Ausdruck einer Membranquellung zu sein, vielmehr scheint die ganze Spore gequollen und etwas mehr abgerundet. Der Glanz ist verloren, die Sporen erscheinen matt. Die Membran hebt sich deutlich ab und bildet eine hellere Zone um die gequollene Spore herum. Weiterhin strecken sich die Sporen wieder etwas mehr, bis plötzlich um

6 Uhr 15 Min. Spore Nr. 1 deutlich schräg polar auskeimt. Die Membran ist, wenn auch stark verquollen, deutlich sichtbar und centralwärts macht sich ein stärker lichtbrechender Ring an derselben bemerkbar. Das junge Stäbchen kommt spitz aus der Membran heraus.

6 Uhr 35. Spore Nr. 3 keimt deutlich polar aus. Es lassen sich an der Sporenmembran zwei verschiedene Schichtungen unterscheiden. Spore und junges Stäbchen sind von einem feinen, hellen Hof umgeben. An der Keimmembran der Spore Nr. 1 zeigt sich die cirkuläre, verschieden lichtbrechende Schichtung derselben noch deutlicher.

7 Uhr 10 Min. Spore Nr. 3 hat die äufsere Membran abgestreift und ist deutlich von einer zweiten, vielleicht etwas weniger stark lichtbrechenden Membran umgeben. Die erste Membran liegt sichelförmig neben dem auskeimenden Stäbchen; letzteres ist vorn zugespitzt und ein wenig gekrümmt. Spore Nr. 1 läfst jetzt ebenfalls deutlich zwei Membranen, eine äufsere stärker lichtbrechende, und eine innere hellere erkennen. Nr. 2 ist gleichfalls deutlich polar ausgekeimt. Auch hier eine Schichtung der Keimmembran. Die äufsere Membranschicht beginnt bereits sich abzustreifen.

7 Uhr 15 Min. Das Präparat wurde nochmals Herrn Prof. Lehmann zur Beurteilung übergeben. Derselbe konstatierte:

1. Schräg polares Auskeimen von Stäbchen Nr. 1, das nochmals gezeichnet wurde; deutlich polares Auskeimen von Stäbchen 2 und 3.

2. Die drei ausgekeimten Sporen lassen mit Sicherheit 2 verschieden starke Membrane erkennen, von denen die äufsere als derbere, Exine, die innere als weniger starke Intine unterschieden werden können.

3. Die Stäbchen sind unbeweglich.

Auch Sporen Nr. 8, 10 und 11 scheinen Keimung vorzubereiten; dieselbe konnte jedoch nicht mehr beobachtet werden.

Gleichzeitig mit dieser Untersuchung wurde eine andere Stelle des Präparats beobachtet und gezeichnet. Sie zeigt im wesentlichen das Gleiche.

4 Uhr. Sporen a, g stark lichtbrechend, von fast cylindrischer Form, scharf konturiert.

5 Uhr 30 Min. Sporen a, b, c, d, e stark verquollen, sowohl Membran als auch der protoplasmatische Inhalt weniger lichtbrechend. Die Form ist jetzt fast vollkommen oval.

6 Uhr 35 Min. Sporen a, b und d ausgekeimt. a und b deutlich zwei Membranen. a deutlich polare Auskeimung, b dagegen schräg polar.

6 Uhr 55 Min. Spore c ausgekeimt, deutlich polar, zwei Membranen, auch Spore d läfst zwei Membranen erkennen.

Bact. Petroselini 21. XI. (Siehe Tafel, Fig. 3.) Kontrollversuch.

Versuch unter Kontrolle von Herrn Prof. Lehmann angestellt. Material aus der Originalkultur, an der Luft getrocknet, mit Agar beschickt. 32 bis 34° C.

12 Uhr 55 Min. 13 Sporen werden im Gesichtsfelde fixiert und sogleich gezeichnet. Sporen fast cylindrisch, stark lichtbrechend, scharf konturiert.

2 Uhr 40 Min. Sporen 1, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13 haben sich bedeutend vergröfsert, etwas abgerundet und ihren Glanz vollkommen verloren. Sporen 1, 5, 6 lassen die Membran deutlich vom protoplasmatischen Inhalt der Sporen unterscheiden.

4 Uhr 5 Min. Spore 1 keimt polar aus; jedoch ist die Spitze des Stäbchens schräg abgeknickt. Spore 5 streng polar gekeimt. Die Membran zeigt sich schärfer konturiert und läfst bei deutlicher Einstellung zwei verschiedene Lichtbrechungssphären innerhalb derselben unterscheiden. In diesem Fall konnte ich den ganzen Vorgang des Auskeimens beobachten, derselbe dauerte ca. 20 Minuten vom ersten Hervorbrechen des Stäbchens bis zu diesem Stadium und machte den Eindruck, als wenn das keimende Stäbchen die Membran mehr und mehr spannt, und dieselbe plötzlich sprengt. Nach ihrem Zerreifsen zieht sich die Membran allmählich zusammen und wird so stärker lichtbrechend. Gleichzeitig sind auch Sporen 6 und 13, beide jedoch deutlich schräg polar, ausgekeimt. Auch Spore 13 läfst mit Sicherheit zwei verschiedene Lichtbrechungssphären innerhalb der Keimmembran unterscheiden.

5 Uhr 35 Min. Spore 11 keimt deutlich polar aus. Indessen haben Spore 1 und 13 ihre erste Membran abgestreift und lassen deutlich eine zweite Membran an dem Stäbchen erkennen. Bei genauem Einstellen zeigt die abgestreifte Membran von Spore 13 ein seitliches Loch. Das aus Spore 5 hervorgebrochene Stäbchen ist etwas gewachsen; die beiden Membranen lassen sich jetzt deutlicher unterscheiden; je nach der Einstellung erscheint die Exine oder Intine hell oder dunkel. Gleiches zeigt Spore 6. Hier hat sich das Stäbchen schon vollkommen von der Membran befreit und ist herausgeschlüpft; diese läfst deutlich eine doppelte Schichtung erkennen. Ein höchst eigenartiges Verhalten zeigt Spore Nr. 12. Das Stäbchen ist hier

schräg polar ausgekeimt, jedoch nach rückwärts gekrümmt und an dem oberen Ende kolbenförmig verdickt. Die Membran zeigt zwei Schichten.

6 Uhr 15 Min. Die Stäbchen aus Sporen 1 und 13 haben die erste Membran vollkommen abgestreift und beginnen sich von der zweiten Membran zu emanzipieren. Diese Beobachtungen lassen keinen Zweifel darüber, ob in diesem Falle zwei Membranen vorhanden waren und abgeworfen wurden. Sonst konnte etwas Neues nicht konstatiert werden. Die Beobachtungen wurden noch bis 9 Uhr abends fortgesetzt; während dieser Zeit keimten auch Sporen 7 und 9 aus. Die Auskeimung von Spore 7 könnte man als äquatorial bezeichnen mit einer schrägen Richtung des Keimstäbchens. Spore 9 keimt polar; somit lassen sich nur bei sehr gutem Willen zwei Membranen erkennen. Bis 9 Uhr waren somit alle differenzierten Sporen ausgekeimt. Die Sporen Nr. 2, 3, 4, 8, 10 zeigten von vornherein keine Neigung zum Keimen und hatten sich auch bis 9 Uhr abends noch nicht verändert.

Fasse ich die Resultate dieser beiden Versuche, welche durch die übrigen von mir angestellten, hier aber nicht mitgeteilten, unterstützt wurden, zusammen, so läfst sich feststellen:

1. dafs die Keimungsart von B. Petroselini grofse Variabilität zeigt,

2. dafs nämlich die Membran sich deutlich in zwei Hüllen auflösen und dieselben nacheinander abwerfen kann, dafs aber auch in gewissen Fällen während der ganzen Keimung stets nur eine Membran zu beobachten ist,

3. dafs das junge Stäbchen sowohl polar als auch schräg polar, in zwei Fällen sogar deutlich äquatorial aus der Membran hervorbrach (Tafel, 5 Uhr 35 Min. Spore 12; Tafel, Spore 7, 8—9 Uhr),

4. dafs nicht alle Sporen gleichzeitig keimen, und einige überhaupt keine Neigung zum Auskeimen besitzen.

4. Bacterium filamentosum E. Klein.

Burchard hebt hervor, dafs die Keimungsbeobachtungen dieses Bakteriums von vornherein dadurch etwas erschwert wurden, dafs es ihm in keiner Weise gelingen wollte, völlig reines Sporenmaterial zu erhalten. »Die Zellhaut scheint bei dieser Art besonders resistent zu sein, wodurch sich auch die relativ sehr langsam vor sich gehende Keimung erklären mag.« Bei anfangs 31, nach 1 Stunde 20 Min. auf 35° C. erhöhter Temperatur zeigten von 4 Sporen 3 nach 1 Stunde 10 Min. eine deutliche Trübung und Anschwellung; eine von ihnen besonders war kreisrund geworden und keimte nach 5 Stunden 10 Min. polar aus, wobei sich die Sporenmembran seitlich etwas abhob. Dieses Abheben soll wohl das Charakteristicum dieser Keimungsart sein; denn als bis zum nächsten Morgen das »kräftig herangewachsene

Stäbchen« die alte Sporenmembran zur Hälfte abgestreift hatte, »hob sich dieselbe deutlich von dem Stäbchen als heller, umfassender Bogen ab.« Gleichzeitig mit Spore 1 keimte auch Spore 2 polar. Es ist ferner noch hervorzuheben, dafs zwei von den vier Sporen, obwohl sie von vornherein Differenzierung im Sinne einer Keimung gezeigt hatten, erst nach 36 Stunden auszukeimen begannen. Es keimten also von vier: 2 Sporen nach 5 Stunden 10 Min., 2 Sporen nach 36 Stunden. Leider hat Burchard nicht angegeben, wie die Keimung bei den letzten beiden Sporen verlief. Es scheint vielmehr, als ob nur die eine der vier Sporen in besonderer Weise keimte und so ein Charakteristikum lieferte. Auch gibt Burchard nicht an, ob er überhaupt mit diesem Bakterium noch mehr Keimungen beobachtet hat, was er sonst fast niemals zu vergessen pflegt. Ferner fehlte auch zu meinem grofsen Bedauern die Angabe, wie alt die Kultur war und woher sie stammte.[1])

Meine eigenen Untersuchungen wurden mit einem Material vorgenommen, das, wie schon erwähnt, von Kral bezogen war, jedenfalls also noch länger auf künstlichen Nährböden gezüchtet, als das Burchardsche gewesen ist. Die ersten Keimungsbeobachtungen, welche ich mit diesem Bakterium vornahm, setzten mich durch ihre Eigentümlichkeit sehr in Erstaunen, und auch Herr Prof. Lehmann, dem ich dieselben zeigte, war zunächst versucht, an einen ganz neuen, bisher noch nicht beobachteten Keimungsmodus zu denken. Ich habe eine gröfsere Reihe Untersuchungen mit diesem Material angestellt, welche alle dasselbe zeigten.

Bacterium filamentosum E. Klein. 26. XI. (Siehe Tafel, Fig. 4.)

Material stammt aus der Originalkultur, wurde an der Luft fixiert, mit Agar beschickt und bei 32—34° C. beobachtet.

12 Uhr. Reines Sporenmaterial, sogleich gezeichnet; Sporen stark lichtbrechend, scharf konturiert, länglichoval bis cylindrisch, niemals kugelig, im Querschnitt kreisförmig.

12 Uhr 45 Min. Sporen b, c, i, o, p verlieren ihren Glanz und lassen eine geringe Vergröfserung erkennen, welche allmählich immer stärker wird und sich auch bei einzelnen anderen Sporen zeigt.

1) Ich halte diese Angabe für besonders wichtig aus dem Grunde, weil, wie ich im II. Teil noch näher auszuführen Gelegenheit nehmen werde, ich aus meinen vergleichenden Untersuchungen der Keimungsvorgänge von altem und jungem Sporenmaterial die Überzeugung gewonnen habe, dafs das Alter der Kultur wesentlichen Einfluſs auf die Keimungsart auszuüben imstande ist. Burchard scheint sein Material von Klein erhalten zu haben, also nicht mit einer frisch gezüchteten Art gearbeitet zu haben.

3 Uhr 15 Min. Innerhalb der gequollenen Sporen eine Differenzierung des Protoplasmas, welche den Eindruck hervorruft, als ob sich die Spore zu teilen beginne. Es läfst sich deutlich in der Mitte desselben eine je nach der Mikroskopeinstellung helle oder dunkle Querleiste erkennen. Eine genauere Untersuchung, welche zugleich mit Herrn Prof. Lehmann vorgenommen wurde, machte uns wahrscheinlich, dafs es sich um eine c-förmige Krümmung des keimenden Stäbchens innerhalb der Sporenmembran handelt. Infolge der Kleinheit der Sporen ist es sehr schwer, ein vollkommen deutliches Bild des ganzen Vorganges zu bekommen. Selbst stärkere Okulare halfen nur wenig. Ich habe mich bemüht, nur das in den beigefügten Zeichnungen aufzunehmen, was mit den mir zu Gebote stehenden Hilfsmitteln deutlich zu erkennen war. Bis

5 Uhr 20 Min. sind schon einige Auskeimungen zu verzeichnen und Stäbchen b ist schon geteilt. Herr Prof. Lehmann, der nochmals eine genaue Untersuchung vornimmt, konstatiert, dafs die Stäbchen c-förmig in der Membran eingeschlossen sind, und dafs die Keimung selbst derart vor sich geht, dafs das keimende Stäbchen, in dem Bestreben, sich zu strecken, die Membran sprengt. Die Einrifsstelle der Membran ist sehr variabel, gewöhnlich scheint sie jedoch äquatorial zu sein. Die Membran streift sich allmählich über das sich langsam streckende Stäbchen zurück. Auf diese Weise kann die Auskeimung sowohl deutlich polar Spore k + m, als auch schräg polar, Spore g, als auch mehr oder weniger äquatorial, Spore i erscheinen. Ein eigentümliches Verhalten zeigen die Sporen a, b und o. Hier hat sich das Stäbchen schon etwas mehr von der Membran befreit. Die Keimung von Spore a zeigt Ähnlichkeit mit dem Modus der polaren; hier ist es dem einen Stäbchenende gelungen, sich zuerst aus der Membran herauszudrängen. Anders Stäbchen b und o; hier waren beide Stäbchenenden in der Membran eingeschlossen, so dafs ein Strecken derselben verhindert war. Bei der fortschreitenden Keimung wurde die Membran an dem Punkte der gröfsten Zerrung, d. i. äquatorial gesprengt, und zwar bei b an der konvexen Seite des Stäbchens, bei o an der konkaven.

Das Präparat wurde bis zum Abend beobachtet und über Nacht unter dem erwärmten Mikroskop gelassen.

Am 27. XI. zeigte sich um 8 Uhr 25 Min. nur minimales Wachstum. Sporen resp. Stäbchen aus a, b, c, d, g, i, k, l, m, o, p, q, r, waren variabel ausgekeimt. Das Weiterwachstum der ausgekeimten Stäbchen aber derart gering, dafs Stäbchen p immer noch erst einmal geteilt, indes alle anderen Stäbchen ungeteilt waren. Alle Stäbchen waren unbeweglich.

10 Uhr 55 Min. Stäbchen g und l geteilt. Die Köpfchen an den Enden der Stäbchen sind jetzt vollkommen verschwunden.

Am 28. XI. war das Wachstum nur minimal vorgeschritten. Stäbchen i war etwas in die Länge gewachsen und zeigte in der Mitte die Anlage einer Spore. Sporen f, e und h unverändert im Sinne einer Keimung.

Bacterium filamentosum. 29. XI. (Tafel, Fig. 5.)

Die Abbildungen sind stark vergröfsert gezeichnet und nach den Vorstellungen, die ich mir gebildet habe, schematisiert. Bei diesem Versuche

habe ich in den entscheidenden Momenten stets Herrn Prof. Lehmann hinzugezogen, welcher auch einen Teil der in Fig. 5 wiedergegebenen Zeichnungen entworfen hat. Der Versuch zeigte im wesentlichen das gleiche wie alle anderen Beobachtungen: Eine Differenzierung des Protoplasmas, als ob die Spore durch eine Brücke geteilt würde; allmählich läfst der Inhalt ein c-förmig gebogenes Stäbchen erkennen. Die Membran reifst an höchst variabler Stelle ein und kontrahiert sich auch unregelmäfsig, so dafs das keimende Stäbchen sowohl polar als schräg polar, als auch äquatorial aus ihr hervorbricht. Auffallend geringes Wachstum. Stäbchen unbeweglich.

Es ist also zu konstatieren, soweit unsere optischen Hülfsmittel reichen:

1. uns stets im Innern der keimenden Spore das Stäbchen gekrümmt angelegt erschien:

2. dafs die Membran vorzüglich äquatorial einreifst, die späteren Lageverhältnisse zwischen Membran und Keimstäbchen aber im höchsten Grade variabel sind,

3. dafs das keimende Stäbchen anfangs im Innern der Spore an den Enden verdickt scheint, später jedoch einem gewöhnlichen Stäbchen ähnlich wird.

5. Bacterium angulans Burchard.

Burchard hat zur Untersuchung dieses Bakteriums 10 Tage altes Material, das er selbst gezüchtet hat, herangezogen. Die Keimung erfolgte nach 2 Stunden 15 Minuten. Im Verlauf der Keimung schwellen die beiden beobachteten Sporen stark an, werden matt und bekommen eine fast kugelrunde Form; trotzdem war Burchard stets im stande, in der Keimungsmembran einen äquatorialen Rifs, durch den das keimende junge Stäbchen hervortrat, zu erkennen. Die jungen Stäbchen sind gleich nach der Auskeimung auffallend plump und dick, werden jedoch besonders am nächsten Tage, also vor der Sporenbildung schmäler und kürzer, an den Enden sind sie jetzt auch nicht mehr, wie früher, abgerundet, sondern scharf abgestutzt, so dafs sie beinahe viereckig erscheinen.

Da meine Keimungsbeobachtungen im wesentlichen mit denen Burchards übereinstimmen, begnüge ich mich, nur einzelne Besonderheiten hervorzuheben, anstatt die ganzen Versuche in extenso vorzuführen. Auch bei mir keimte Bacterium angulans äquatorial, nachdem sich die Spore etwas abgerundet hatte, die Keimungszeit war im höchsten Grade schwankend. Das Charakteristicum jedoch, den höchst eigentümlichen Vorgang der Formveränderung an den Stäbchen, habe ich niemals beobachten können. Bei meinen Versuchen waren die Stäbchen

nicht gerade auffallend plump, aber an den Kanten stets abgerundet; eine nachmalige Verkürzung derselben konnte ich trotz vieler und genauer Versuche niemals bemerken. Da die Stäbchen unbeweglich waren, und auch kein zu lebhaftes Wachstum zeigten, gelang es mir, sie einige Tage unter einem Mefsapparat zu beobachten; ich habe jedoch niemals eine Verkürzung an demselben Bakterium beobachtet. Längere und kürzere Stäbchen kamen allerdings vor. Obgleich ich auch mehrfach Sporenbildung beobachten konnte, war eine Formveränderung im Sinne Burchards nicht zu konstatieren.

6. Bacillus loxosporus Burchard.

Burchard hat beobachtet, dafs die Sporen des Bacill. loxosporus (um 10 Uhr bei 34° C., von 11 Uhr ab 35° C., von 1 Uhr ab 36° C. beobachtet!) bis 1 Uhr 50 Min. keine Veränderung zeigten, dafs sich dann »die Sporenhaut in zwei halbkugelige Hälften auseinanderklappt, aber nur aus der einen Hälfte das Stäbchen auskeimt. Es ist dies also ein äquatoriales Zerreifsen der Sporenhaut, aber ein polares Keimen,« »Es zeigte sich« bei näherer Durchsuchung des Präparats, »dafs dieses eigenartige Aufklappen der Sporenmembran in zwei halbkugelige Hälften bei der Keimung aller Sporen auftritt, also ein für diese Art besonders charakteristisches Merkmal ist«. Leider ist auch hier wieder nicht erwähnt, wie alt das Material war, mit dem die Untersuchung vorgenommen wurde.

Für meine eigenen Untersuchungen stand mir leider nur ein Material zur Verfügung, welches infolge seiner Kleinheit nur wenig instruktiv war. Dasselbe war, wie schon erwähnt, von Kral bezogen und wohl schon auf die verschiedensten Nährböden übergeimpft worden. Aus der Reihe meiner Beobachtungen will ich nur einen herausgreifen, welcher das, was ich gesehen habe, zeigen möge.

Bacillus loxosporus 4.

Material aus der Originalkultur, an der Luft getrocknet, mit Agar versehen, bei 32—34° C. beobachtet.

10 Uhr 45 Min. Sporen sehr klein, oval, stark lichtbrechend, scharf konturiert.

12 Uhr. Alle Sporen haben ihren Glanz verloren und erscheinen stark verquollen, ovale Form; jedoch an einzelnen Sporen eine minimale Längsstreckung.

12 Uhr 20 Min. Einige Sporen zeigen grofse Ähnlichkeit mit den keimenden Sporen von Filamentosum: In der Mitte eine helle oder dunkle Protoplasmabrücke und an den Rändern eine mondsichelförmige Differenzierung. Es hat den Anschein, als wollte die Spore sich teilen.

12 Uhr 45 Min. Die Sporen haben sich noch mehr gestreckt, so dafs sie den Eindruck von Stäbchen hervorrufen.

1 Uhr 20 Min. Die Stäbchen sind vollkommen ausgewachsen, einige geteilt. Bei genauem Zuschauen kann man auch noch an den Enden einiger Stäbchen eine dunklere Kontur unterscheiden. Der Moment des Zerreifsens der Membran war infolge der Kleinheit der Sporen trotz sorgfältiger und andauernder Beobachtung nicht zu erkennen.

Ich habe im ganzen ca. 30 Untersuchungen von loxosporus auf das Sorgfältigste beobachtet; ich konnte jedoch das, was Burchard konstant an allen Sporen beobachtete, nie wieder entdecken.

Wie aus den eben mitgeteilten Resultaten aus den von mir mit Burchardschen Bakterienarten vorgenommenen Untersuchungen zu ersehen ist, stimmten meine Beobachtungen mit den von Burchard mitgeteilten nur in den seltensten Fällen genau überein. Zuweilen jedoch waren die Differenzen so bedeutend, dafs ich versucht war, anzunehmen, ich hätte nicht mit reinem Sporenmaterial gearbeitet, oder aber die Keimungsart einiger Bacillen, ihr Hauptkeimungsmodus zeigte sich derart von dem von Burchard angegebenen Charakteristicum abweichend, dafs ich überhaupt an eine andere Bakterienart denken mufste. Immer konnte ich aber durch den Vergleich der morphologischen und physiologischen Nachuntersuchung die Identität der betreffenden Art feststellen.

Dafs Burchard das, was er seiner Arbeit angibt, gesehen hat, davon bin ich vollkommen überzeugt, glaube aber, dafs er in gewissen Fällen zu schnell eine zufällig im Mikroskop beobachtete Keimungsvariation als charakteristisch für die untersuchte Bakterienart annahm, ohne die Art genügend beobachtet zu haben. Da ich bei keiner der Burchardschen Bakterienarten, die ich zu untersuchen Gelegenheit hatte, den von Burchard als konstantes Charakteristicum angegebenen Keimungsmodus als konstantes Merkmal erkennen konnte, habe ich noch einige frisch gezüchtete Arten auf die Konstanz in dem Auskeimungsmodus untersucht. Es kam mir dabei naturgemäfs weniger auf die Frage, wie das betreffende Bakterium keimte, an, sondern vielmehr, wie viel Einzelindividuen derselben Art den vollkommen gleichen Keimungsmodus zeigten.

Im Nachfolgenden habe ich einige dieser Untersuchungen aus meinem Protokoll ausgewählt.

7. Bacillus gangränosus pulpae Arkövy.

Dieser Bacillus wurde von Zahnarzt Zierler im hiesigen Institut isoliert und seine Keimung untersucht. Demselben verdanke ich auch das Material zu meinen Untersuchungen, von denen ich nur eine hier anführen will, zumal sie aufser den Studien über die Konstanz nichts Neues zu bieten vermögen.

Das Material konnte trotz sorgfältigster Vorbehandlung nicht vollkommen von vegetativen Elementen befreit werden. Um das Präparat deutlicher zu machen, wurde eine Reinkultur $^1/_2$ Stunde lang auf 80° C. erwärmt, alsdann auf einem Deckglase fein verstrichen, an der Luft getrocknet, mit Agar versehen.

11 Uhr 45 Min. 8 Sporen gezeichnet; Form länglich oval, im Querschnitt rund, stark lichtbrechend, scharf konturiert.

12 Uhr 15 Min. Sporen Nr. 2, 3, 6, 7, 8 beginnen trüber zu werden und in der ganzen Circumferenz gleichmäfsig zu verquellen.

12 Uhr 25 Min. Sporen 4 und 5 gleichfallls verquollen. Sporen 2, 3, 7 und 8 haben sich etwas abgerundet, ohne jedoch kugelig zu sein. Bei scharfem Zusehen kann man bei Spore 8 äquatorial eine minimale Ausbuchtung erkennen.

1 Uhr 30 Min. Die Ausbuchtung von Spore 8 läfst sich deutlich als ein keimendes Stäbchen erkennen, das sich vollkommen äquatorial durch die Membran hindurchdrängt und um 1 Uhr 30 Min. schon geteilt ist. Sporen 3 und 7 ebenfalls streng äquatorial gekeimt. Keimstäbchen vorne verbogen und zugespitzt. Spore 2 und 5 dagegen deutlich schräg polar ausgekeimt, wobei auch die Einrifsstelle der Membran polarwärts verschoben erscheint.

4 Uhr. Die Keimstäbchen, anfangs unbeweglich, werden gewöhnlich nach der 1. Teilung beweglich. Zuweilen haftet ihnen noch, selbst wenn sie schon zu langen Fäden ausgewachsen sind, die Sporenmembran in Form einer Kappe an, von der sie sich, wie es scheint, zu befreien streben. Einige kürzere Fäden und einige Stäbchen tragen keine Membran mehr. Das zuerst aus der Spore heraustretende Stäbchen scheint keine Geifseln zu besitzen und zuweilen läfst sich beobachten, wie an einem langen Faden nur die ältere Hälfte beweglich ist, während die jüngere entweder still liegt oder passiv mitbewegt wird.

8. Aus der Luft gezüchteter Bacillus,

in den Formenkreis von Bacillus subtilis gehörend, von Herrn Professor Lehmann erhalten.

Das Material wurde auf einem Deckglase fein verstrichen, an der Luft getrocknet, mit Agar versehen und bei 32—34° C. beobachtet.

11 Uhr. Es werden einige Sporen im Gesichtsfelde fixiert und sogleich gezeichnet. Dieselben sind stark lichtbrechend, mit scharfer Kontur versehen, cylindrisch, an den Kanten etwas abgerundet. Zwischen ihnen einige einzelne Stäbchen verstreut, einige zu Fäden vereinigt.

12 Uhr 15 Min. Einige Sporen verlieren ihren Lichtglanz. Membranen verquollen, sowie der ganze Umrifs der Sporen mit feinen Ausbuchtungen versehen. Sporen vollkommen kugelig.

12 Uhr 30 Min. Plötzlich bricht aus Spore Nr. 6 eine Vorwölbung äquatorial, wie es scheint, und ein wenig gekrümmt hervor und schiebt sich langsam weiter heraus. Auch an anderen Sporen ist das Gleiche zu beobachten.

1 Uhr. Einige Stäbchen haben ihre Sporenmembran abgestreift. Ein ungeteiltes Stäbchen, das etwas gröfser ist als die anderen, ist durch schlängelnde Bewegung bemüht, von seiner Membran loszukommen. Bei Spore 4 hatte ich Gelegenheit, den ganzen Vorgang der Keimung in allen Phasen zu beobachten (vgl. Tafel, Fig. 6). Nachdem die Spore vollkommene Kugelform angenommen, zeigen sich an der Peripherie hellere und dunklere Partien, bei denen man infolge der starken Verquellung nicht mit Sicherheit entscheiden kann, ob sie sich allein auf die Membran oder auch auf den protoplasmatischen Inhalt beziehen (a). Weiterhin zeigt sich die Oberfläche mit ganz feinen und nicht immer konstanten Verwölbungen versehen (b), welche jedoch verschwinden, je mehr sich nach einer Seite hin ein konischer Fortsatz hervordrängt. Dieser Fortsatz ist vielleicht etwas weniger lichtbrechend als die keimende Spore (c) und je weiter sein Wachstum fortschreitet, umso deutlicher wird diese Lichtdifferenz (d), ein Zeichen, dafs die Membran durchrissen ist und sich zurückzuziehen beginnt. Das junge Stäbchen drängt jetzt weiter aus der Membran heraus, und die Membran zieht sich langsam über ihm zurück (e und f), um schliefslich als ein scharfer Kontur dem einen Stäbchenende anzuhaften (g). Innerhalb der Sporenmembran macht sich jetzt ein hellerer Lichthof bemerkbar, der anzudeuten scheint, dafs sich das junge Stäbchen von der Membran befreit. Das vorher im Verhältnis zur Sporenmembran und zu den bereits ausgeschlüpften Stäbchen auffallend helle Keimstäbchen wird an seinen Konturen wesentlich dunkler, bis eine scharfe Linie die Stäbchenmembran erkennen läfst (g, h, i).

Welcher Art in diesem Falle die Keimung war, ist unmöglich festzustellen, wenn man nicht aus der früheren Lage der Spore Rückschlüsse macht. Das frisch ausgeschlüpfte Stäbchen scheint gewöhnlich nicht sogleich mit Geifseln versehen zu sein, es kommen jedoch auch soeben ausgekeimte Stäbchen zur Beobachtung, welche, kaum vollkommen aus der Sporenmembran hervorgequollen, schon in deutlicher, sehr angestrengter Bewegung bemüht zu sein scheinen, von derselben loszukommen. Derartige Zustände konnten bei Durchsuchung des Präparats in grofser Anzahl konstatiert werden. Der gröfsere Teil der Stäbchen ist im Bestreben, die Sporenmembran abzustreifen, erfolgreich.

Die Sporenbildung war schon nach 24 Stunden nach der Aussaat vollendet. Sie geht derart vor sich, dafs ein Teil des Protoplasmas sich differenziert, aber im Gegensatz zum gewöhnlichen Typus derart, dafs sich in dem Stäbchen, mehr dem einen Ende genähert, eine helle Zone des Protoplasmas ungefähr in der Gröfse der reifen Spore sondert, in der Form jedoch mehr oval als cylindrisch. Diese Sporenanlage scheint den übrigen Teil des Protoplasmas aus dem Stäbchen in sich aufzunehmen; denn sie wird, zuerst hell erscheinend, allmählich stärker lichtbrechend, bis sie mehr der cylindrischen Form sich nähernd, vollkommen einer reifen Spore gleicht. Nach 12 Stunden kann das ganze Stäbchenprotoplasma zur Spore verwandelt worden sein, so dafs nur noch die Stäbchenmembran die reife Spore umschliefst. In vielen, vielleicht den häufigsten Fällen, schwindet auch sie sehr schnell.

Von den vielen weiteren Beobachtungen in dieser Art beschreibe ich nur noch eine. Material in bekannter Weise behandelt; Agar, 32—34° C.

Nach 2 Stunden begann die erste Keimung, soweit zu erkennen, äquatorial. Doch waren bei manchen äquatorialen Keimungen geringe Abweichungen von der streng senkrechten Richtung des jungen Stäbchens zur Längsachse der keimenden Sporen zu beobachten. Eine Verschiebung der Rifsstelle nach den Polen zu war jedoch nicht zu erkennen. In allen Fällen ging dem eigentlichen Keimungsakte der Sporen eine Formveränderung derselben in der Weise voraus, dafs dieselben sich mehr abrundeten, aber nicht immer Kugelform annahmen. Im allgemeinen erschienen sie mehr aufgequollen und liefsen mehrfach wechselnde Ausbuchtungen der Membran deutlich erkennen (Prof. Lehmann). Das Stäbchen ist in ca. 2 Stunden vollkommen ausgeschlüpft und in diesem Falle waren die Stäbchen vor der ersten Teilung unbeweglich.

Die ganze Entwicklung dieses Bacillus von Spore zu Spore dauert kaum 24 Stunden, so dafs ich in einigen Fällen sogar direkt die neugebildeten Sporen zur Untersuchung heranzog. Es zeigte sich jedoch, dafs dieses Material im Laufe der Weiterimpfungen nicht mehr so regelmäfsig keimte, dafs die Zahl der keimenden Sporen wesentlich verringert war und dafs auch, besonders in der Auskeimungszeit, grofse Schwankungen beobachtet wurden.

Heubacillus 1.

Dieses Bacterium keimt nicht so präzis wie das aus der Luft gezüchtete. Es wird ein Präparat an der Luft getrocknet und mit Agar versehen bei 32—34° C. beobachtet.

11 Uhr stark lichtbrechend, cylindrische Sporen mit Stäbchen untermischt, ohne Eigenbewegung.

12 Uhr 35 Min. Sporen mehr ovale Gestalt, einige fast kugelig. Stäbchen lebhaft beweglich.

1 Uhr 2 Sporen ausgekeimt, schräg äquatorial. Eine Spore (*c*), die sich kugelig abgerundet hatte, keimt ebenfalls; sie macht den Eindruck, als ob sie streng äquatorial ausgekeimt ist; jedoch nach einigen Minuten zieht sich

die Membran an der einen Stelle etwas zurück, und die Keimung erscheint jetzt schräg polar. Bis zum nächsten Tage sind Sporen gebildet, mit denen der folgende Versuch angestellt wird.

Heubacillus 1.

Stäbchen durch Kochen bei 75° C. abgetötet. Agar 32—34° C.

1 Uhr 15 Min. Sporen fast cylindrisch, wenige Stäbchen unbeweglich.

3 Uhr. Nachdem die Sporen sich etwas abgerundet haben, keimen Spore 3 und 7 streng äquatorial aus. Bei Spore 7 wurde der Moment der Keimung gerade beobachtet. Er zeigte grofse Ähnlichkeit mit der Art, wie der Luftbacillus auskeimte; hier drang jedoch das junge Stäbchen gleich ein ganzes Ende aus dem Membranrifs hervor und die Sporenmembran kontrahierte sich plötzlich sichtbar.

3 Uhr 5 Min. Spore 5 und 6 äquatorial ausgekeimt.

3 Uhr 15 Min. Spore 4, vorher vollkommen kugelig, keimt mit einem plötzlichen Ruck, ähnlich Spore 7. Bis zum nächsten Tage Sporen gebildet, mit denen der folgende Versuch angestellt wird.

Heubacillus 1.

Stäbchen durch Kochen bei 75° abgetötet. Gelatine 32—34° C.

4 Uhr. Sporen fast cylindrisch, Kanten etwas abgerundet, wenige Stäbchen unbeweglich.

5 Uhr. Alle Sporen stark verquollen, ovale Form, Nr. 1 und 3 sehr stark vergröfsert.

5 Uhr 45 Min. Spore 3 keimt mit einer Spitze deutlich schräg äquatorial, Spore 5 streng äquatorial mit einer breiten Kappe.

6 Uhr 5 Min. Spore 1 schräg äquatorial, Spore 4, vorher vollkommen kugelig, keimt mit einem plötzlichen Ruck.

Heubacillus 2.

Material nicht vorbehandelt, an der Luft getrocknet, mit Agar beschickt, bei 32—34° C. beobachtet.

I. Versuch. Sporen stark lichtbrechend, cylindrisch, mit abgerundeten Kanten, zeigen nach ca. 1 Stunde 15 Minuten, nachdem sie sich fast vollkommen abgerundet und stark vergröfsert haben, mehr weniger streng äquatoriale Auskeimung. Es keimten von 14 beobachteten Sporen innerhalb 4 Stunden 35 Minuten alle 12 veränderten Sporen.

Am nächsten Morgen zeigte das Präparat reines Sporenmaterial, alte und neugebildete Sporen. Aus diesem wird ein Präparat für den

II. Versuch angefertigt, Luft getrocknet, Agar 32—34° C.

12 Uhr. 12 Sporen gezeichnet, stark lichtbrechend, cylindrisch, Kanten etwas abgerundet; alte und neue Sporen nicht zu unterscheiden. Spore 2 und 7 sind etwas mehr oval und weniger lichtbrechend.

1 Uhr. Einzelne Sporen stark verquollen, Lichtglanz verloren, und stark abgerundet.

1 Uhr 30 Min. Nr. 5 keimt deutlich schräg äquatorial. Der Membranrifs liegt etwas dem einen Pole zu, jedoch ist das junge Stäbchen nach der andern Seite gekrümmt.

4 Uhr 30 Min. Spore 1 deutlich schräg äquatorial ausgekeimt, Spore 2 und 3 unverändert, Spore 4 unverändert, Spore 5 zeigt noch deutlicher den schräg äquatorialen Typus. Spore 6 und 7 unverändert. Spore 8 keimt schräg polar mit einer seitlichen Abknickung des Stäbchens. Spore 9 deutlich streng äquatorial. Spore 10 unverändert. Spore a und b streng äquatorial. Der Vorgang der Keimung ist derselbe, wie er bei den früheren äquatorialen Auskeimungen beobachtet wurde. Bis zum nächsten Morgen hatte ein grofser Teil der Stäbchen Sporen gebildet; einige fanden sich jedoch noch in voller Beweglichkeit. Es gelang mir zufällig, hieraus ein Präparat zu züchten, das im Gesichtsfelde reines Sporenmaterial zeigte. Dasselbe wurde für den

III. Versuch mit Agar beschickt und bei 32—34° C. beobachtet.

Von 7 beobachteten Sporen keimte 1 Spore noch ca. 1 Stunde 15 Min. Die nächsten 3 Keimungen konnten erst nach 4 Stunden beobachtet werden. Im weiteren Verlaufe zeigten sich die ausgekeimten Stäbchen nur selten frei herumschwimmend, sondern sie hatten eine ausgesprochene Neigung, zu langen, unbeweglichen Fäden auszuwachsen. (Beobachtet mit Herrn Prof. Lehmann.)

Am nächsten Morgen zeigten einige Fäden Sporen in unregelmäfsigen Abständen, einige Stäbchen dieser Fäden hatten gar keine Sporen gebildet. Die Fäden waren deutlich, wenn auch etwas unregelmäfsig septiert.

Zwei weitere Versuchsreihen, bei denen ich ebenfalls Sporenmaterial von Präparat auf Präparat überimpfte, zeigten mir ebenfalls deutlich:

1. dafs die Sporenkeimung unregelmäfsiger wird,
2. dafs weniger Sporen auskeimen und auch
3. weniger Sporen gebildet werden.

II. Teil. Folgerungen aus den Beobachtungen; Vergleich meiner Resultate mit denen meiner Vorgänger.

Ein Blick in die Litteratur zeigt, dafs schon vor Burchard eine Reihe von Autoren Material zusammengebracht haben, welches den Beweis dafür liefert, dafs die verschiedenen Bakterienarten unter sich vielfach verschieden keimen. Aber aus den gleichen Arbeiten geht gleichzeitig hervor, dafs innerhalb derselben Bakterienart weitgehende Modifikationen des Keimungstypus zur Beobachtung gelangen. Es genügt wohl als Beweis hierfür zu erwähnen, dafs schon Pommer[1]) (1886) an seinem

1) Pommer (B. brassicae). Ein Beitrag zur Kenntnis der fadenbildenden Bakterien. Mitteil. a. d. botan. Inst. z. Graz, 1886.

Bacillus brassicae gefunden hat, dafs die Sporenhaut nicht immer an ein und derselben Stelle durchbrochen wird, sondern manchmal am Pol, manchmal am Äquator oder auch an andern dazwischen liegenden Punkten; dafs ferner Grethe[1]) ein Jahr vor Burchard an einem aus einem Papagei gezüchteten, sowie einigen Heubacillen ebenfalls alle Übergänge von der polaren bis zur äquatorialen Keimung beobachten konnte. »Durch diesen letzten Befund«, schreibt Mühlschlegel[2]), »erklären sich auch die auseinandergehenden Beobachtungen von Cohn und Prazmowski. Jener sah die Sporenkeimung des Bacillus subtilis polar, dieser äquatorial auskeimen.« Die Cohnsche Arbeit ist 1876, die Prazmowskische 1880 erschienen. Burchards Arbeit ist erst 1898 gedruckt worden. Trotzdem schreibt er auf Seite 56: »Bei der Keimung beobachtete ich ausnahmslos, dafs dieselbe bei jeder Art in einer unveränderlichen und für die Art durchaus charakteristischen Weise stattfindet. Dies bestätigen ja auch die Beobachtungen der eingangs erwähnten anderen Forscher auf diesem Gebiete, soweit sie sich nicht auf die blofse Angabe der Art der Keimung allein beschränken.« Wie vorsichtig diese Behauptung Burchards von der »ausnahmslosen Unveränderlichkeit« und dem charakteristischen Wesen jeder einzelnen Bakterienart aufgenommen werden mufs, möge, ehe ich unsere Beobachtungen im Zusammenhang vergleiche, an einem Beispiel gezeigt werden. Burchard hat die Keimung des Bacterium filamentosum nur an 4 Sporen beobachtet, von denen zwei nach 5 Stunden 40 Min. keimten. Jedoch nur eine von ihnen zeigte ein Charakteristicum, nämlich dafs sich die Sporenmembran »seitlich etwas abhob«. Die beiden andern beobachteten Sporen keimten erst am Abend des nächsten Tages, also nach ca. 36 Stunden; ob aber auch sie die seitlich etwas abgehobene Membran zeigten, erwähnt Burchard gar nicht. Zur weiteren Beurteilung der Burchardschen Angaben citiere

1) G. Grethe, Über die Keimung der Bakteriensporen. Sep.-Abdr. aus Fortschritte d. Medizin, Bd. 15, 1897.

2) Mühlschlegel, Über die Bildung und den Bau der Bakteriensporen. Fortschritte d. Medizin.

ich aus seiner Zusammenfassung Absatz 4: »Es gibt Bakterien, die regelmäfsig bipolar keimen (Bacillus bipolaris)«, und zum Vergleich aus der Untersuchung von bipolaris, S. 36: »Sehr häufig sind unter zehn keimenden Sporen drei bis vier, die nur an einem Pole keimen«. Das sind bis zu 40%.

Dieses aus den Widersprüchen der Burchardschen Arbeit selbst! Ich gehe jetzt zum eigentlichen Thema: Der Konstanz und Verwendbarkeit der Sporenkeimung über.

Die Charakteristica, welche Burchard als »das sicherste diagnostische Hilfsmittel zur Erkennung der Art« empfiehlt, erstrecken sich auf folgende Punkte:

»1. Verhalten der Sporenmembran vor der Keimung,
»2. Verhalten der alten Sporenhaut während der Keimung,
»3. Art der Keimung des neuen Stäbchens,
»4. Verhalten der alten Sporenhaut nach der Keimung,
»5. Entwicklung des neuen Stäbchens,
»6. Zeitdauer der Keimung, und
»7. Temperaturverhältnisse.«

Um häufige Wiederholungen zu vermeiden, verzichte ich darauf, die Differenzen, welche meine Untersuchungen gegenüber der Burchardschen ergeben haben, noch einmal ausführlich an dieser Stelle wiederzugeben; dieselben finden sich oben am Schlusse jeder Untersuchung zusammengestellt. Nur das Prägnanteste habe ich für das Folgende herausgegriffen.

Die beiden Hauptforderungen, welche man an ein »sicherstes diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung der Art« naturgemäfs stellen mufs, sind neben der Möglichkeit, dasselbe überhaupt mit Sicherheit zu erkennen, die Feststellung, dafs es

1. nur der betreffenden Art zukommt, oder wenigstens
2. der betreffenden Art immer zukommt.

Meine Untersuchungen haben wohl zur Genüge gezeigt, dafs diese beiden Forderungen von keinem, der von Burchard angegebenen diagnostischen Hilfsmittel in strengem Sinne erfüllt werden. Sowohl das Verhalten der Membran vor, während und

nach der Keimung, als auch die Art der Keimung des neuen Stäbchens, sowie dessen weitere Entwicklung, sind bei fast allen von mir nachuntersuchten Arten als erheblich variabel innerhalb derselben Art erkannt worden:

Die Sporenmembran von Bacterium Petroselini liefs bei Burchard zwei Sporenhäute erkennen, die regelmäfsig nacheinander abgeworfen wurden. Diese Beobachtung soll für B. Petroselini das Erkennungsmerkmal bilden. Es sind jedoch schon von A. Mayer[1]) mittels Reagentien an andern Sporenmembranen zwei Häute als Exine und Intine beschrieben worden; ferner hat auch Mühlschlegel[2]) an einer Reihe von Bacillensporen zwei Schichten der Membran, nämlich ein mattgraues, breiteres Endosporium und ein dünneres, als scharfe Linie erscheinendes Ektosporium färberisch nachweisen können. Bei meinen Versuchen mit Petroselini habe ich zwar zuweilen eine zweischichtige Sporenhaut während der Keimung unterscheiden können, jedoch nur zweimal habe ich bei einer gröfseren Reihe von Versuchen die beiden Häute hintereinander abstreifen sehen; meistens waren aber auch nicht einmal die beiden Schichtungen zu erkennen. Somit besitzt das Bacterium Petroselini Burchard das von seinem Entdecker angegebene Erkennungsmerkmal 1. nicht allein[3]), und 2. läfst es dieses Merkmal nicht immer erkennen. Aber auch das Verhalten und die Entwicklung des Keimstäbchens, der eigentliche Auskeimungsmodus des Bact. Petroselini, den Burchard als polar beschreibt, zeigte mir weitgehende Variationen; in einem Falle war sogar die Auskeimung deutlich äquatorial und das keimende Stäbchen bog sich nach dem einen Pole um (vgl. S. 20, 21).

1) A. Mayer, Studien über die Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien, ausgeführt an Astasia asterospora A. M. und Bacillus tumescens Zopf. Flora. Ergänzungsband, Bd. LXXXIV, 1897, Heft 3.

2) a. a. O.

3) Burchard hat offenbar durch Übersehen der zitierten Arbeiten die Bedeutung seiner schönen Beobachtung von der doppelten Sporenmembran überschätzt. Daraus erwächst ihm kein ernster Vorwurf. Ebenso halte ich es für möglich, dafs die von Burchard beobachteten Petroselinussporen alle deutlich zwei Membranen erkennen liefsen.

Vielleicht noch gröfsere Variationen, sowohl betreffs des Verhaltens der Membran als auch des jungen Stäbchens, beobachtete ich bei Bacillus goniosporus Burchard. Wie ich schon bei meinen Versuchen erwähnt habe, hat Burchard es unterlassen, das Charakteristicum, welches er während der Keimung dieses Bacillus beobachtete, anzugeben. Ich nehme aus seiner Beschreibung an, dafs es auch hier wiederum in dem Verhalten der Sporenmembran zu suchen sei, welche nach der Keimung »den Stäbchen als helles, durchsichtiges Mützchen« aufsitzt. Aber jeder, der sich mit Sporenkeimung beschäftigt hat, wird zugeben müssen, dafs die Membran stets als helles Mützchen oder mehr weniger durchsichtige Kappe dem Stäbchenende aufsitzt, wenn es sich nicht um ein vollkommenes Verquellen derselben handelt. Dieses vollkommene Verquellen der Sporenmembran während der Keimung habe ich nun gerade bei Goniosporus unter bestimmten Bedingungen regelmäfsig erhalten. Nämlich, wenn ich die Untersuchungen in Gelatine vornahm. Züchtete ich den Bacillus auf Gelatine weiter und untersuchte ihn in Gelatine, so verquoll die Membran vollkommen, indes bei einer Keimungsbeobachtung dieses auf Gelatine weiter gezüchteten Materials im frischen Agar an der Mehrzahl der Sporen wieder eine Membran deutlich zu erkennen war (vgl. Versuchsreihe Goniosporus S. 15). Nicht ganz frischer Agar zeigte stets an allen Sporen eine Membran. Ich glaube deshalb mit einem gewissen Rechte für dieses verschiedene Verhalten der Membran, die Verschiedenheit der Nährböden in Anspruch nehmen zu dürfen. Migula schreibt in seinem »System der Bakterien«, Sporenkeimung S. 194: »Die Keimung ist verschieden, je nach dem Nährboden, in welchem sich die Spore befindet.« Koch hat keine Abhebung der Sporenmembran beobachten können »und in der That kommt es bei Bac. anthracis in flüssigen Nährsubstraten häufig nicht dazu«. In festen Nährböden spielt sich der Keimungsprozefs jedoch derart ab, dafs die Sporenmembran polar zerreifst.

Erkennen wir diese Einwirkung des Nährbodens, der niemals ein absolut konstanter ist, auf das Verhalten der Sporenmembran

an, so erscheinen die Angaben Burchards, dafs für eine ganze Reihe von Arten der Grad der Verschleimung der Sporenmembran bei der Keimung charakteristisch sei, mindestens weiterer Nachprüfung bedürftig. Ich selbst konnte von Kral keine Kulturen dieser Arten bekommen; bin jedoch subjektiv überzeugt, dafs auch hier ähnliche Resultate wie bei Goniosporus erhalten werden.

Höchst eigentümlich war das Verhalten des keimenden Stäbchens von Filamentosum E. Klein. Dort fand ich nicht allein statt der von Burchard beschriebenen einfachen polaren Keimung ein eigentümliches, gekrümmtes Verhalten des Stäbchens vor der Keimung, sondern auch die Art der Keimung war im höchsten Grade wechselnd, bald polar, bald äquatorial. Eine hypothetische Erklärung dieser Variation aufzustellen, will ich mir versagen, da meine Untersuchungen mir noch keine genügende Stütze bilden. Erwähnt sei nur, dafs Bact. filamentosum, sowie auch Bac. loxosporus Burchard, der sich ähnlich verhielt, schon längere Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet worden sind.

Auch die andern von mir nachuntersuchten Burchardschen Arten zeigten mehr weniger individuelle Variationen, welche ich stets am Ende jeder Untersuchung hervorgehoben habe.

Bacillus gangränosus pulpae keimte hauptsächlich äquatorial bis schräg äquatorial. Eine Besonderheit im Verhalten der Membran war mir nicht möglich festzustellen.

Es erübrigt nun noch auf die Keimung der von mir frisch gezüchteten Bacillen einzugehen. Um Wiederholungen zu vermeiden, verweise ich auch hier wiederholt betreffs eingehenderer Schilderung auf den untersuchenden Teil. Fasse ich die dort gemachten Untersuchungen zusammen, so ist hervorzuheben, dafs dieselben, wenn auch nicht im Sinne Burchards konstant, so doch wesentlich regelmäfsiger keimten als die Burchardschen Arten. Und um die Probe auf das Exempel zu machen, konnte ich bei dem Weiterzüchten dieser Bacillen auf künstlichen Nährböden unter steter mikroskopischer Beobachtung feststellen, wie die einzelnen Arten immer unregelmäfsiger keimten. (vgl. Versuchsreihe S. 27).

Weder die Zeit, welche bis zur Keimung verstreicht, noch die Temperatur, welche zur Keimung notwendig ist, liefert, wie ebenfalls aus meinen Untersuchungen in Übereinstimmung mit den anderen Autoren hervorgeht, höhere und brauchbare Speciesmerkmale.

Schlufsfolgerungen.

Es lassen sich aus diesen Beobachtungen folgende Hauptresultate ziehen:

1. Es gibt verschiedene Typen der Sporenkeimung, und dieselbe ist bei den einzelnen Arten oft recht verschieden; jedoch zeigt sich auch innerhalb der einzelnen Arten zuweilen grofse Variabilität, indem oft in sehr erheblichem Prozentgehalt verschiedene Individuen wesentliche Abweichungen von dem für die Art festgesetzten Typus bilden.

2. Die Thatsache, dafs bei der gleichen Bacillenart, je nach dem Nährboden, die Sporenmembran bald deutlich abgeworfen wird, bald vollkommen verquillt und dann verschwindet, mufs bei Verwendung dieser Eigenschaft zur Artdiagnose sehr berücksichtigt werden.

3. Die Variabilität wächst mit dem Weiterzüchten auf künstlichen Nährböden. Es mag darin zum Teil die Verschiedenheit meiner Resultate von denen Burchards begründet sein.

4. Es gibt Bacillen mit zwei Sporenhäuten; jedoch ist hieraus beim gegenwärtigen Stand unserer Kenntnis kein Merkmal zur Erkennung einer bestimmten Art zu konstruieren.

5. Es gibt Bacillen, die bipolar keimen; jedoch zeigen bei den bisher beschriebenen Arten stets sehr viele Individuen einfach polare Keimung.

6. Ein Bedürfnis zur Aufstellung des Typus »schräg polare Keimung« scheint mir nicht zu bestehen. Stets finden sich bei polar wie äquatorial keimenden Arten eine Anzahl schräg polar keimender Individuen. — Spezies, die konstant schräg polar keimen und nicht sehr viele polar oder äquatorial keimende Individuen enthalten, erscheinen mir nicht einwandsfrei beschrieben.

7. Nimmt die Spore vor der Keimung Kugelform an, so wird der Entscheid, ob äquatoriale oder polare Keimung stattfindet, unmöglich.

8. Aus allem Gesagten folgt als Endergebnis:

Die Art der Sporenkeimung ist ein Artmerkmal, das volle Aufmerksamkeit verdient. Die Behauptung aber, dafs die Sporenkeimung für jede Art in durchaus unveränderlicher charakteristischer Weise verläuft und daher das sicherste diagnostische Hilfsmittel zur Erkennung der Art ist (Burchard), geht viel zu weit. Weder besitzt jede Art einen auffallend von den anderen Arten abweichenden Modus der Sporenkeimung, noch ist dieser Modus für jede Art konstant. Die Sporenkeimung variiert vielmehr, namentlich bei der längeren Kultur der Arten fast in ähnlicher Weise wie die übrigen morphologischen und biologischen Eigenschaften der Bakterien.

Die Sporenkeimung ist somit wohl unter den angeführten Einschränkungen ein beachtenswertes, aber keineswegs ein absolut charakteristisches, also auch kein ausreichendes Merkmal zur Artcharakterisierung.

Als ich gerade im Begriff war, Herrn Prof. Lehmann diese Arbeit vorzulegen, wurde mir von demselben eine bis heute[1]) in zweiter Fortsetzung erschienene Abhandlung von Dr. O. Gottheil, »Botanische Beschreibung einiger Bodenbacterien«, weil sie auch mein Gebiet streifte, zur Durchsicht übergeben. Aus derselben habe ich hervorzuheben, dafs sich die dort niedergelegten Beobachtungen mit meinen Resultaten vollauf decken und eine nachträgliche wesentliche Stütze für die aufgestellten Thesen zu bilden wohl imstande sind.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Lehmann für die hilfreiche Unterstützung bei der Anstellung der Versuche, sowie für das grofse Interesse, welches derselbe dem Verlaufe dieser Arbeit entgegenbrachte, auch an dieser Stelle meinen tiefgefühltesten Dank auszusprechen.

1) Zweite Fortsetzung, erschienen im Centralblatt f. Bakteriologie etc. Zweite Abhandlung, VII. Bd., Nr. 13. Jena, 10. Juni 1901 Untersuchung der Keimung der Sporen, S. 456.

Tafelerklärung.

Aus naheliegenden Gründen ist es unterlassen, alle auskeimenden Sporen in den einzelnen Phasen ihrer Entwicklung im Bilde festzuhalten; ich habe mich vielmehr begnügt, das Wichtigste, die Differenzen in den Keimungstypen derselben Art, zu fixieren.

Fig. I. Bacillus goniosporus, frischer Agar, 32—34° C.

Fig. II. Bacterium Petroselini, Agar, 32—34° C.

Fig. III. Bacterium Petroselini, Agar, 32—34° C.

Fig. IV. Bacterium filamentosum, Agar, 32—34° C.

Fig. V. Bacterium filamentosum stark schematisiert.

Fig. VI. Luftbacillus, Spore 4, in den einzelnen Phasen ihrer Entwicklung.

Lebenslauf.

Verfasser wurde am 26. VI. 78 zu Rummelsburg in Pommern geboren und besuchte die Elementarschule daselbst, sowie die Realgymnasien zu Stolp und Stettin. Während seiner Universitätsstudien hörte er die Vorlesungen folgender Herren Professoren und Dozenten:

Berlin: Prof. Busch, Virchow, Waldeyer, Warnekros.

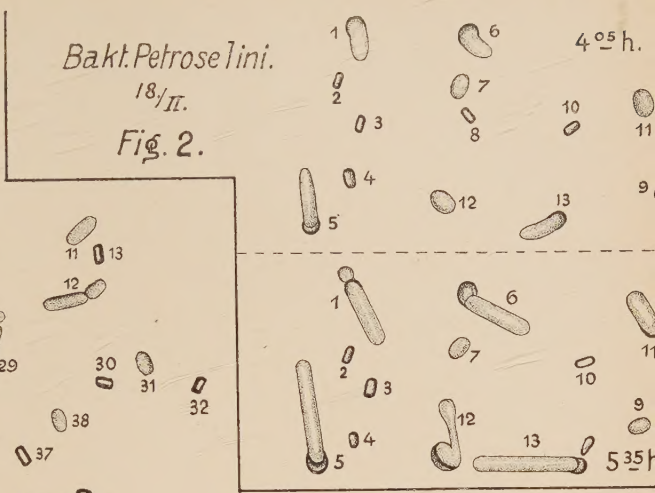
Leipzig: Prof. Chun, Eigenbrodt, Friedrich, Held, Hesse, Pfeffer.

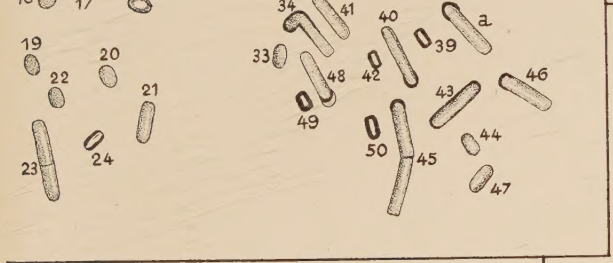
Halle: Prof. Brandes, Grenacher.

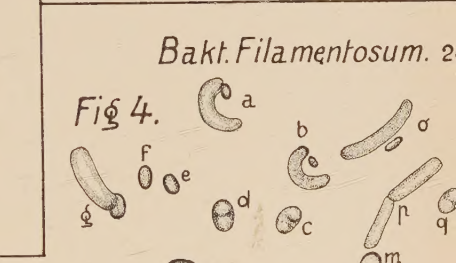
Würzburg: Prof. Boveri, Hauptfleisch, Kraus, Lehmann, Regel.

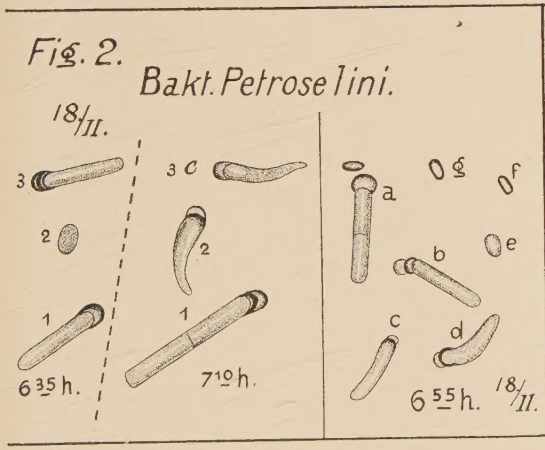
Es ist ihm eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle seinen verehrten Herren Lehrern für den genossenen Unterricht herzlichst zu danken.

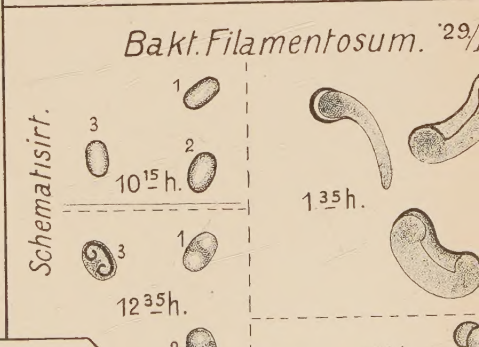
Im Jahre 1898 bestand Verfasser in Leipzig ein zahnärztliches Staatsexamen mit dem Prädikat »sehr gut« und studierte seitdem ausschliefslich Bakteriologie und Naturwissenschaften an den Universitäten von Halle und Würzburg.

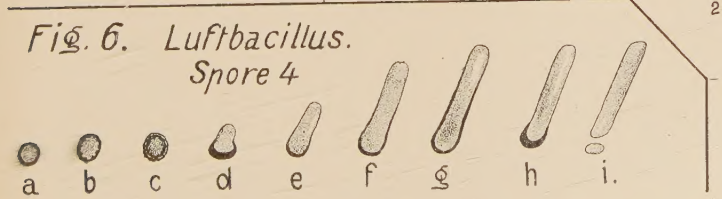












Druck von R. Oldenbourg in München.